

## 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 呉 本 年 弘

主論文 1 編

Spontaneous oscillation of the ciliary beat frequency regulated by release of  $\text{Ca}^{2+}$  from intracellular stores in mouse nasal epithelia.

Biochemical and Biophysical Research Communications 507:211-216,2018

## 審 査 結 果 の 要 旨

粘液線毛クリアランスは鼻粘膜宿主防御機構であり表層粘液層で吸入小粒子を捉え線毛運動により鼻腔から排出している。線毛運動はこの機構を駆動するエンジンの役割を担っている。鼻粘膜線毛運動についても、他部位の気道線毛運動と同様に細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ), cAMP/PKA などにより活性化されると考えられているが、主たる活性化機構については不明な点が多い。

申請者はマウス鼻粘膜線毛細胞を用い実験を行い、その過程で線毛運動周波数 (CBF) の自発的 oscillation を見出した。  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  oscillation が CBF oscillation を起こしている可能性が考えられた。マウス鼻粘膜線毛細胞における CBF oscillation と  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の関係について検討した。 CBF oscillation は細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  を取り除くことでは消失しなかった。しかし BAPTA-AM (細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  キレート剤) を用いた実験では CBF oscillation は完全に消失した。また蛍光色素 (Fluo4) を使用した線毛細胞内カルシウムの濃度測定では非刺激時の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  には oscillation が認められた。細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  を取り除くと  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は低下するものの  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  oscillation は消失しなかった。一方で BAPTA-AM を付加し細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  をキレートすることで、  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  oscillation は完全に消失した。これらの結果より、CBF oscillation は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  の oscillation が原因であり、この成因は細胞内ストアーからの  $\text{Ca}^{2+}$  放出である可能性が考えられた。そこで細胞内のカルシウムストアーを枯渇させるために  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 阻害薬である Thapsigargin (TG) を用いて次の実験を行った。 CBF oscillation を示す細胞に TG を加えると、CBF は増加し CBF oscillation は消失した。さらに細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  を取り除いた上で TG を加えると同様に CBF oscillation は消失した。続いて  $\text{IP}_3$  受容体を阻害する 2APB を用いて実験を行なった。 2APB 投与により CBF oscillation は消失した。 CBF oscillation に対する cAMP/PKA の効果を調べるために、IBMX (PDE1 阻害薬) を用い cAMP を増加させた。細胞内の cAMP 増加は、わずかに CBF を増加させたが、CBF oscillation の数は変化しなかった。以上よりマウス鼻粘膜線毛細胞の CBF oscillation は  $\text{IP}_3$  受容体を介した細胞内ストアーからの  $\text{Ca}^{2+}$  放出により引き起こされていることが明らかとなった。

以上が本論文の要旨であるが、鼻粘膜における CBF は主に  $\text{Ca}^{2+}$  によって調節されており、他の気道部位とは異なる特徴を持っていることを世界で初めて示した。これらの点で医学的価値のある研究と認める。

平成 31 年 1 月 17 日

審査委員 教授 伊 東 恭 子 (印)

審査委員 教授 井 上 匡 美 (印)

審査委員 教授 樽 野 陽 幸 (印)